

|             |  |
|-------------|--|
| 氏 名         | ふなこし た え<br>船 越 多 恵  |
| 学 位 の 種 類   | 博士 (医学)  |
| 学 位 記 番 号   | 甲第475号   |
| 学位授与年月日     | 平成16年 3月16日  |
| 学位授与の要件     | 学位規則第4条第1項該当   |
| 学 位 論 文 題 目 | 温熱刺激により発現される熱ショック蛋白 72 が<br>lipopolysaccharide により誘導されるラット肺水腫へお<br>よぼす影響に関する検討 |
| 学位論文審査委員    | (主査) 石 部 裕 一<br>(副査) 平 井 和 光      清 水 英 治                                      |

## 学 位 論 文 の 内 容 の 要 旨

多くの臓器で様々な侵襲刺激に対して熱ショック蛋白 (HSP) を誘導する反応が見られる。温熱刺激 (HS) は HSP を誘導し細胞保護効果を発現することは、肝臓、心臓、腎臓、小腸、肺臓などの臓器で報告されている。これらストレスに反応した HSP 誘導は細胞が備えている本来の保護機序と考えられている。急性肺障害モデルにおいても HS の前処置が HSP を誘導し肺障害を改善することが示され、HSP による肺保護効果が期待されている。しかし臨床的には、侵襲刺激後に加えられた HS にも肺保護作用が認められれば、より治療法としての意義が高い。今回の研究の目的は、HS の前処置あるいは後処置の Lipopolysaccharide (LPS) 誘導性肺障害に対する効果を検討し、さらに HSP と炎症性サイトカイン誘導の関連について明らかにすることである。

## 方 法

11 週齢、体重 330~350g の雄の Sprague-Dawley ラットを、LPS 処置と HS を加える時間関係によって 4 群に分類した (対象群: 無処置、LPS 群: LPS 投与のみ、前処置群: HS の 18 時間後に LPS 投与、後処置群: LPS 投与直後に HS)。HS は、ペントバルビタール 50 mg/kg の腹腔内投与で麻酔したラットを温湯に浮かべ、直腸温度で 41.5°C を 15 分間保つことにより与えた。肺障害は LPS 3 mg/Kg を静脈投与により作成した。肺障害の程度は、圧容量曲線および気道内圧 25 cmH<sub>2</sub>O の肺容量 (全肺容量)、肺乾湿重量比 (W/D) を LPS 処置 18 時間後まで経時的に測定して評価した。また血漿 Tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )、interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ )、macrophage inflammatory protein-2 (MIP-2) 濃度、血漿 myeloperoxidase (MPO) 活性を測定した。TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、MIP-2、HSP72 の mRNA 定量はノザンブロット法により解析した。HS、LPS 処置後の HSP72 の蛋白発現をウェスタンブロット解析で確認した。

## 結 果

LPS 処置により全肺容量は減少し、W/D は増加したが、HS で前処置あるいは後処置することによ

り 18 時間後にはこれらの変化を一部、有意に抑制した。LPS 処置により血漿 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 濃度は増加したが、HS の前処置あるいは後処置の影響は受けなかった。HS の後処置により LPS 処置後の血漿 MIP-2 濃度、MPO 活性は有意に増加した。LPS 処置は肺組織で TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、MIP-2 mRNA を誘導したが、HS の前処置はその発現量を減弱した。後処置は影響を与えなかった。HS により肺組織の HSP72 mRNA 発現量は 2 時間後に最大値となり、HSP72 蛋白量は 2 時間後に増加を認め、6、18 時間後にさらに増強した。一方、HS の後処置は LPS 処置による HSP72 mRNA 発現を促進した。

## 考 察

肺障害の急性期には肺毛細血管透過性が亢進して肺水腫を形成し、肺コンプライアンスが減少する。肺圧容量曲線と W/D を測定することで肺水腫の程度を評価した。今回の実験では HS の前処置、後処置いずれでも、LPS 処置から 18 時間後のこれらの指標を有意に改善し、肺水腫を抑制した。HS の前処置に関しては、様々な臓器で保護効果が報告されており HSP の関与が示唆されている。今回の実験でも HS の前処置は、肺組織に HSP72 を誘導し、炎症性サイトカインの遺伝子発現を抑制した。サイトカイン誘導とそれに引き続く細胞障害の抑制が、肺水腫の改善に関与したと推察される。HS の後処置でも肺水腫抑制効果が認められた。炎症性サイトカインの抑制は明らかでなかったが、HSP72 の誘導が促進された。LPS 処置よりやや遅れて誘導される HSP を介して細胞修復作用が発現し、肺障害への進展を抑制したと推察される。今回の知見より、HSP の急性肺障害の治療などへの臨床応用に直接言及することはできないが、分子レベルでの HSP 発現は、炎症、感染、虚血再環流などにより引き起こされる急性肺障害の予防、治療に発展する可能性を示唆するものである。

## 結 論

LPS 投与の 18 時間前または LPS 投与直後の 41.5°C、15 分の全身温熱刺激は、肺組織に HSP72 を誘導し、LPS 誘発性肺水腫の発現を抑制した。その作用機序として、HS の前処置では HSP による炎症性サイトカイン誘導抑制が、後処置では HSP による細胞修復作用が示唆された。

## 論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究は SD ラットを用いて、lipopolysaccharide (LPS)誘導性肺障害モデルを作成し、温熱刺激の前処置、後処置の肺障害への影響、また熱ショック蛋白 (HSP)、サイトカイン発現の関与に関して検討したものである。その結果、全身温熱刺激は、肺組織に HSP72 を誘導し LPS 誘発性肺水腫の発現を抑制した。温熱刺激の前処置では HSP による炎症性サイトカイン誘導抑制が、後処置では HSP による細胞修復作用が、肺保護に関与することを示唆した。本論文の内容は、HSP の LPS 誘導性肺障害抑制効果を示したものであり、明らかに集中治療医学の分野で学術水準を高めたと認める。